

بررسی سمیت عصاره‌ی هیدروالکلی هندوانه‌ی کوهی Momordica Charantia بر کبد موش‌های سوری نر

حمید نصری^۱، سعید مردانی^۲، محمود رفیعیان کوپایی^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: هندوانه‌ی کوهی، به علت خاصیت هیپوگلاسمیک شهرت دارد و به صورت گسترده در جامعه جهت درمان دیابت استفاده می‌شود. در این تحقیق، علاوه بر بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه و اثر آن بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی خون، احتمال هپاتوتوکسیسیته این گیاه با بررسی شیمیایی و هیستوپاتولوژیک مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش‌ها: در این مطالعه، ۷۰ موش سوری نر با وزن ۲۵-۳۰ گرم وارد مطالعه شدند و به طور تصادفی در ۷ گروه قرار گرفتند. موش‌ها به مدت ۷ روز در شرایط آزمایشگاهی نگهداری و سپس در روز هشتم دوزهای مختلف عصاره‌ی هندوانه‌ی کوهی از طریق تزریق داخل صفاقی دریافت کردند. گروه‌های درمان تک دوز شامل ۱۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و گروهی که یک هفته تحت درمان با دوز ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت روزانه قرار گرفت. سپس به مدت ۷۲ ساعت موش‌ها تحت نظر بودند و بعد از آن کشته شدند. کبد موش‌ها جهت بررسی هیستولوژی برداشته و تغییرات هیستوپاتولوژیک کبد بررسی شد. سرم موش‌ها نیز از نظر آنزیم‌های کبدی (ALP یا Alkaline phosphatase، SGPT یا Serum glutamic-pyruvic transaminase و SGOT یا Serum glutamic oxaloacetic transaminase) بررسی شد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی خون و گیاه نیز محاسبه شد.

یافته‌ها: در کلیه‌ی گروه‌هایی که دارو را به صورت تک دوز دریافت کرده بودند، تغییرات آماری معنی‌داری در میزان آنزیم‌های کبدی SGOT، SGPT و ALP و همچنین در مطالعات بافت‌شناسی مشاهده نشد ($P > 0.05$). مقادیر آنزیم‌های SGOT، SGPT و ALP به ترتیب 180 ± 54 ، 180 ± 76 و 80 ± 54 بود. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی هندوانه‌ی کوهی ۶۸ درصد و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی خون ۵۶۴ میکرومول بر لیتر به دست آمد.

نتیجه‌گیری: هندوانه‌ی کوهی تا دوز ۴۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت تک دوز برای کبد آسیب و سمیتی ایجاد نمی‌کند، اما انجام مطالعات بیشتر با دوزهای مختلف دارو پیشنهاد می‌شود.

واژگان کلیدی: هندوانه‌ی کوهی، کبد، آلکالن فسفاتاز، آسپاراتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز

ارجاع: نصری حمید، مردانی سعید، رفیعیان کوپایی محمود. بررسی سمیت عصاره‌ی هیدروالکلی هندوانه‌ی کوهی Momordica Charantia بر

کبد موش‌های سوری نر. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۵؛ ۳۴ (۳۷۶): ۲۸۴-۲۷۷

مقدمه

از زمان‌های قدیم، استفاده از گیاهان دارویی در درمان بسیاری از بیماری‌ها رایج بوده است (۱-۲). سالانه، مقادیر قابل توجهی دارو و مکمل غذایی طبیعی توسط مردم در بسیاری از مناطق جهان مصرف می‌شود. این میزان در سال‌های اخیر رشد چشمگیری داشته است که ناشی از اعتقاد به بی‌خطر بودن این فراورده‌ها در بین مردم می‌باشد. بدون شک، برخی ترکیبات گیاهان دارویی که تا به امروز به صورت سنتی استفاده شده‌اند، مسمومیت شدید و گاه کشنده‌ای ایجاد می‌کنند. به همین دلیل، امروزه به طور مداوم با گزارش‌های موردی از عوارض

سمی داروهای گیاهی روبه‌رو هستیم (۸-۳).

هندوانه‌ی کوهی (Bitter melon) از خانواده‌ی Cucurbitaceae جنس Momordica و گونه‌ی M.charantia با نام فارسی هندوانه‌ی کوهی می‌باشد (۹-۱۲). ویژگی‌های دارویی این گیاه، شامل خواصی همچون ضد دیابت، ضد ویروس، ضد توموری، آنتی‌ولسر، ضد التهاب، کاهنده‌ی کلسترول خون، کاهنده‌ی تری‌گلیسرید خون، کاهنده‌ی فشار خون، محرک ایمنی بدن، دافع حشرات، پیش‌گیری کننده از بارداری، ضد مالاریا، از بین برنده‌ی آگزما، خاصیت محرک قاعدگی، ضد پنومونی، ضد پسروریازیس، مفید

۱- استاد، گروه داخلی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- استادیار، گروه داخلی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

۳- استاد، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: محمود رفیعیان کوپایی

Email: rafieian@yahoo.com

۴۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت تک دوز و در آخر گروه دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی هندوانه‌ی کوهی با دوز ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت روزانه به مدت یک هفته دسته‌بندی شدند.

حیوانات مورد مطالعه، در شرایط طبیعی و دسترسی کامل به آب و غذا قرار داشتند. درجه‌ی حرارت اتاق نگهداری حیوانات ۲۸-۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد بود. در ابتدای مطالعه، از همه‌ی موش‌ها خون‌گیری انجام شد. موش‌ها به مدت ۷ روز در شرایط آزمایشگاهی نگهداری شدند. سپس در روز ۸ مطالعه، دوزهای مختلف عصاره‌ی هندوانه‌ی کوهی از طریق داخل صفاقی به موش‌ها تزریق شد و سپس به مدت ۷۲ ساعت موش‌ها تحت نظر بودند (۳۵-۳۴، ۱۷، ۸). پس از آن، در پایان مدت آزمایش، هر گروه بیهوش و خون‌گیری جهت اندازه‌گیری آنزیم‌های کبدی به روش کیتیک انجام شد.

هیستوپاتولوژی: پس از بیهوش کردن موش‌ها با اتر و قطع کردن سر و کالبدشکافی به روش سیستماتیک، برش استریل در محل‌های مشخص ایجاد شد و کبد به صورت استریل خارج گردید. سپس، یک نیمه از کلیه و کبد برای رنگ‌آمیزی به روش هماتوکسیلین-ئوزین در داخل محلول فرمالین بافر ۱۰ درصد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت. پس از عمل پاساژ دادن نمونه در داخل دستگاه اتوتکنیون، با برنامه‌ی منظم و خودکار، جابه‌جایی نمونه‌ها در داخل محلول‌های مختلف صورت گرفت. بدین ترتیب که با اتانول با سیر صعودی آب‌گیری و با گزینش شفاف‌سازی صورت گرفت. سپس، نمونه‌ها در پارافین ۵۵ درجه آغشته شدند و برش‌های عرضی به ضخامت ۵ میکرون با استفاده از دستگاه میکروتوم دوار تهیه و به روش رایج رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین، اسلایدهای هیستوپاتولوژی تهیه شدند و با استفاده از میکروسکوپ نوری به صورت کیفی مورد بررسی قرار گرفتند (۳۶-۳۷، ۲۲).

تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه با استفاده از روش بتا کاروتن: در ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی، از سیستم مدل بتا کاروتن لیتولات، استفاده شد. امولسیون بتا کاروتن ۰/۲ میلی‌گرم در ۰/۲ میلی‌لیتر کلروفرم، لینولتیک اسید ۲۰ میلی‌گرم و ۴۰ میلی‌گرم پلی‌اکسی اتیلن سوربیتان مونو پالمیتات ۲۰۰ میلی‌گرم به ۴۰ میلی‌لیتر آب اکسیژنه به عنوان شروع‌کننده‌ی یک اکسیدانت، اضافه شد. ۴ میلی‌لیتر Aliquots از این امولسیون به نمونه‌های مورد مطالعه، اضافه گردید. در پایان، فعالیت آنتی‌اکسیدانی این مواد با بتا کاروتن، ارزیابی شد. اندازه‌گیری جذب در ۴۷۰ نانومتر، در فاصله‌ی زمانی ۱۸۰ دقیقه در آزمایش، در ۱۵ دقیقه فعالیت آنتی‌اکسیدانی، برابر با ۱۰۰ که A0 و A0 معیارهای جذب اندازه‌گیری در زمان صفر و A1 و A0 معیارهای جذب اندازه‌گیری در نمونه‌های شاهد و مورد به طور نسبی، بعد از تزریق به مدت ۱۸۰ دقیقه بودند، انجام شد (۳۸-۳۷، ۲۳، ۱۸).

برای روماتیسم و درمان گال است (۱۸-۱۳). شواهد، دلالت بر این دارد که هندوانه‌ی کوهی، گلکونئوزن کبدی را کاهش، سترز گلیکوژن کبدی را افزایش و اکسیداسیون گلوکز محیطی را در اریتروسیت‌ها و سلول‌های چربی افزایش می‌دهد (۲۱-۱۹، ۱۱). ثابت شده است که دانه و میوه‌ی هندوانه‌ی کوهی، کلسترول تام بدن را که یک عامل ایجاد‌کننده‌ی سندرم متابولیک است، کاهش می‌دهد. در یک مطالعه سطح بالای کلسترول و تری‌گلیسرید در موش‌های مبتلا به دیابت بعد از ۱۰ روز از گذشت درمان به سطح طبیعی بازگشت (۲۲).

افزایش در گلوتامیل ترانسفراز و آلکالان فسفاتاز پس از درمان خوراکی با عصاره‌ی میوه و عصاره‌ی دانه‌های این گیاه گزارش شده است. در یک مطالعه، میزان سمیت کم همه‌ی قسمت‌های هندوانه‌ی کوهی در حیوانات آزمایشگاهی که عصاره‌ی گیاه را دریافت می‌کردند، مشاهده شد (۱۴). همچنین، مطالعه‌ای نشان داد که ترکیبات هندوانه‌ی کوهی، کلسترول سرم، کلسترول تام و تری‌گلیسرید کبدی را در موش صحرایی کاهش داد. هندوانه‌ی کوهی، فعالیت آدنوزین ۵ مونوفسفات -آنزیم تسهیل‌کننده‌ی جذب گلوکز سلولی و اکسیداسیون چربی‌ها- را افزایش می‌دهد و افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب، منجر به کاهش وزن می‌شود (۲۶-۲۲).

یکی از کاربردی‌ترین مصارف این دارو در درمان دیابت است که طبق مطالب پیش‌گفته، یک ماده‌ی پلی‌پپتید شبه انسولین از این گیاه نیز استخراج شده است (۲۹-۲۷)، اما مطالعات زیادی روی سمیت آن انجام نشده و بی‌خطر بودن یا مضر بودن آن اثبات نشده است. در این تحقیق، علاوه بر بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه و اثر آن بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی خون، احتمال هپاتوتوکسیسیته‌ی این گیاه با بررسی شیمیایی و هیستولوژیک مورد ارزیابی قرار گرفت (۳۳-۳۰).

روش‌ها

گیاه هندوانه‌ی کوهی تهیه شده از کشور هندوستان توسط کارشناس مربوط ارزیابی و تأیید شد. جهت تهیه‌ی عصاره‌ی الکلی گیاه، از روش پرکولاسیون استفاده و در نهایت پنج غلظت ۱۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از گیاه هندوانه‌ی کوهی تهیه گردید. در نهایت، موش‌های سوری نر در هفت گروه شاهد (بدون دریافت دارو) و دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی هندوانه‌ی کوهی با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت تک دوز و دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی هندوانه‌ی کوهی با دوز ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت تک دوز و دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی هندوانه‌ی کوهی با دوز ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت تک دوز و دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی هندوانه‌ی کوهی با دوز ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت تک دوز و دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی هندوانه‌ی کوهی با دوز

$$AA = [100[1 - A_0 - At1] / [A_0 - A_{tc}]]$$

اندازه‌گیری فنول کل: میزان ترکیبات فنولی کل، بر اساس روش رنگ‌سنجی فولین-سیوکالتیو و بر حسب اسید گالیک، اندازه‌گیری شد (۲۱). ابتدا، محلول‌های استاندارد با غلظت‌های ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۶۲/۵، ۱۰۰ و ۱۲۵ قطعه در میلیون (Part per million یا ppm) از اسید گالیک در محلول ۶۰ درصد متانول تهیه شد. آن گاه، از هر یک، ۰/۱ میلی‌لیتر به لوله‌ی آزمایش منتقل شد و به آن‌ها ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول ۱۰ درصد واکشنر فولین-سیوکالتیو اضافه شد و پس از ۸-۳ دقیقه، به آن ۰/۴ میلی‌لیتر از محلول کربنات سدیم ۷/۵ درصد اضافه شد. آن گاه، لوله‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه، نگهداری و پس از آن، میزان جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر و در سه تکرار اندازه‌گیری شد. سپس، برای تعیین فنول کل عصاره‌ها، ۰/۰۲-۰/۰۱ گرم از عصاره‌ها را در متانول ۶۰ درصد حل کرده و به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانیده و بر اساس روش فولین-سیوکالتیو میزان فنول کل، تعیین شد. با این تفاوت که به جای محلول استاندارد، ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول عصاره اضافه شد. آن گاه، بر اساس میزان جذب خوانده شده، مقدار فنول کل بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره به دست آمد (۳۹-۴۲).

تعیین ظرفیت کلی آنتی‌اکسیدان خون با استفاده از روش Ferric reducing ability of plasma (FRAP): روش سنجش FRAP که در سال ۱۹۹۶ توسط Strain و Benzie معرفی شد، یک روش حساس، تکرار پذیر و دقیق است که در آن، ظرفیت کلی آنتی‌اکسیدانی پلاسما خون از طریق تعیین توانایی پلاسما در تبدیل کمپلکس فریک تری پریدین تریازیل (TPTZ - Fe+3 یا Tripyridine-Triazole - Fe+3) به فرم فرو (Fe2+) مشخص می‌گردد. فرم فرو در محیط اسیدی به رنگ آبی است و حداکثر جذب نوری آن در طول موج ۵۹۳ نانومتر قابل اندازه‌گیری می‌باشد (۴۱).

در این پژوهش، ابتدا محلول‌های استاندارد یون آهن تهیه و با محلول کار FRAP که شامل محلول تری پریدین تریازیل، کلرور آهن و بافر استات بود، مخلوط و طبق روش کار استاندارد جذب آن‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Shimadzu-uv3100 ساخت کشور ژاپن در طول موج ۵۹۳ نانومتر خوانده شد.

خون حیوانات، از طریق خون‌گیری مستقیم از قلب حیوان و با استفاده از سرنگ آغشته به هپارین جمع‌آوری شد. سپس، با استفاده از سانتریفیوژ با شتاب ۱۰۰۰ دور در دقیقه، پلاسما خون جدا گردید و طبق دستورالعمل استاندارد با محلول کار FRAP مخلوط و

جذب آن در طول موج ۵۹۳ خوانده شد. با تعیین جذب نمونه‌ها و با استفاده از منحنی استاندارد، ظرفیت کلی آنتی‌اکسیدانی پلاسما خون بر مبنای غلظت یون فرو بر حسب میکرومول در لیتر مشخص خواهد شد. این آزمایش، برای تمام گروه‌های آزمایش قبل و پس از مواجهه با دارو انجام شد (۴۲).

در آخرین مرحله، اطلاعات به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL) و آزمون‌های آماری ANOVA و χ^2 جهت مقایسه‌ی نتایج بررسی شد. $P < 0/05$ از نظر آماری معنی‌دار تلقی شد.

یافته‌ها

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی هندوانه‌ی کوهی

فعالیت آنتی‌اکسیدانی (درصد بازدارندگی یا ظرفیت عصاره در جلوگیری از تولید پراکسید در لینولئیک اسید) برابر با ۶۸ درصد بود.

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی خون

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی خون قبل از مداخله برابر ۵۶۴ میکرومول بر لیتر بود. بعد از مداخله در گروه‌های مورد مطالعه این اعداد به شرح جدول ۱ به دست آمد.

جدول ۱. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی خون بعد از مداخله در گروه‌های

مورد مطالعه

گروه	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی خون بعد از مداخله (میکرومول بر لیتر)
شاهد	۵۶۴
تک‌دوز	۱۱۰۸
۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم	۷۴۱
۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم	۵۵۳
۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم	۷۰۳
۲۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم	۶۲۴
۴۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم	۴۳۶
دوز روزانه به مدت یک هفته	۴۳۶
۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم	

بررسی اثر دوزهای مختلف هندوانه‌ی کوهی بر روی سطوح

ALP SGOT SGPT

نتایج آزمون ANOVA اختلاف آماری معنی‌داری را از نظر میزان

جدول ۲. اثر دوزهای مختلف هندوانه‌ی کوهی بر روی سطوح (ALP) Alkaline phosphatase، Serum glutamic-pyruvic transaminase (SGPT) و (SGOT) Serum glutamic oxaloacetic transaminase

گروه	(mg/dl) ALP	(mg/dl) SGPT	(mg/dl) SGOT
شاهد	۲۰۰/۰ ± ۹۵/۰	۹۰/۰ ± ۷۰/۰	۱۶۵/۵ ± ۵۱/۰
تک‌دوز	۲۰۶/۰ ± ۷۱/۰	۹۷/۸ ± ۶۷/۰	۱۹۶/۰ ± ۹۱/۰
۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم	۲۴۳/۰ ± ۱۰۸/۰	۶۷/۷ ± ۴۵/۰	۱۴۳/۰ ± ۵۷/۰
۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم	۱۹۰/۰ ± ۱۱۰/۰	۷۷/۰ ± ۴۰/۰	۱۹۹/۰ ± ۹۲/۰
۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم	۱۵۹/۰ ± ۶۲/۰	۴۹/۵ ± ۲۸/۰	۱۷۳/۰ ± ۱۳۰/۰
۲۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم	۱۹۲/۰ ± ۹۹/۰	۸۸/۰ ± ۶۷/۰	۲۰۶/۰ ± ۳۸/۰
۴۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم	۲۲۳/۰ ± ۴۹/۰	۸۵/۷ ± ۴۰/۰	۱۸۰/۰ ± ۶۳/۰
دوز روزانه به مدت یک هفته	۲۰۴/۷ ± ۸۸/۰	۸۰/۶ ± ۵۴/۰	۱۸۰/۸ ± ۷۶/۰
میانگین کل			

ALP: Alkaline phosphatase; SGPT: Serum glutamic-pyruvic transaminase; SGOT: Serum glutamic oxaloacetic transaminase

آن کشته شدند. آنزیم‌های کبدی شامل Alanine aminotransferase (ALT) و Gamma-glutamyl transferase (GGT) اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که هیچ کدام از این پارامترها در گروه‌های دریافت کننده‌ی عصاره با گروه شاهد تفاوت آماری معنی‌داری نداشت (۱۶).

در مطالعه‌ی انجام شده توسط Tennekoon و همکاران افزایش قابل مشاهده‌ای در سطوح GGT و ALP پس از دریافت خوراکی عصاره‌ی میوه و دانه هندوانه‌ی کوهی گزارش شد که با نتایج مطالعه‌ی حاضر مغایرت دارد (۱۸). در مطالعه‌ی حاضر، پاتولوژی کبد تغییراتی را نشان نداد و در هیچ کدام از گروه‌های مورد مداخله، تفاوت آماری معنی‌داری با گروه شاهد وجود نداشت. در مطالعه‌ی انجام شده توسط Nazrul-Hakim و همکاران، پاتولوژی بافت کبد نیز بررسی شد که به جز مقدار کمی احتقان چیز دیگری مشاهده نشد و بین گروه‌های مورد مطالعه تفاوت آماری معنی‌داری وجود نداشت (۱۶).

در مطالعه‌ی انجام شده توسط پولادوند و همکاران بر روی هندوانه‌ی ابوجهل، تغییرات بافت‌شناسی مثبتی بعد از دریافت خوراکی دوزهای مختلف در موش‌های مبتلا به دیابت مشاهده شد. نتایج مطالعه‌ی آن‌ها نشان داد که تغییرات ایجاد شده در کبد به دنبال دیابت، پس از مصرف هندوانه‌ی کوهی بهبود یافت و فضای گشاد سینوزوئیدهای بین هپاتوسیت‌ها از بین رفت و در واقع، این مطالعه اثر حفاظت کبدی این دارو را متذکر می‌شود (۲۵).

نتایج این مطالعه نشان دهنده‌ی این بود که درمان تک دوز با هندوانه‌ی کوهی تا دوز ۴۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم، هیچ پاتولوژی در کبد نه از نظر آنزیمی و نه از نظر هیستولوژیک ایجاد نمی‌نماید، اما مطابق مطالعه‌ی قبلی، درمان ۷ روزه با این دارو، منجر به برخی تغییرات پاتولوژیک در کلیه‌ی موش می‌شود که اختلاف آماری معنی‌داری را با سایر گروه‌ها نیز نشان داد و نتایج مشابهی نیز در سایر

تغییرات فعالیت هیچ یک از آنزیم‌های کبدی اندازه‌گیری شده از قبیل Alkaline phosphatase (ALP)، SGPT (Serum glutamic-pyruvic transaminase) و SGOT (Serum glutamic oxaloacetic transaminase) بین گروه‌ها نشان نداد ($P > 0/05$). اثر دوزهای مختلف هندوانه‌ی کوهی بر روی سطوح SGPT، SGOT و ALP در جدول ۲ آمده است.

بررسی اثرات دوزهای مختلف هندوانه‌ی کوهی بر روی پاتولوژی کبد
بررسی بافت پاتولوژی کبد هیچ یافته‌ی پاتولوژیکی را نشان نداد و بین گروه‌ها، تفاوت آماری معنی‌داری با گروه شاهد وجود نداشت ($P > 0/05$).

بحث

در این مطالعه، ۷۰ موش سوری در ۷ گروه مساوی تقسیم شدند و تحت درمان با دوزهای هندوانه‌ی کوهی قرار گرفتند. کمترین دوز در این مطالعه، ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم و بیشترین دوز ۴۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم بود. همچنین، یک گروه تحت درمان یک هفته‌ای با عصاره‌ی هندوانه‌ی کوهی با دوز ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم قرار گرفتند. در این مطالعه، سطوح آنزیم‌های کبدی شامل ALP، SGPT و SGOT ارزیابی شد. طی این مداخله، پارامترهای کبدی بین گروه‌های تحت درمان با گروه شاهد تفاوت آماری معنی‌داری را نشان نداد و افزایش محسوسی در آنزیم‌های کبدی وجود نداشت.

در مطالعه‌ی انجام شده توسط Nazrul-Hakim و همکاران که به منظور بررسی اثر پلی‌پپتید K جدا شده از دانه‌ی هندوانه‌ی کوهی بر روی ۳۰ موش صحرایی نر انجام شد، موش‌ها به سه گروه تقسیم شدند و تحت درمان با عصاره به میزان ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت تک دوز قرار گرفتند. پس از گاوژ داخل دهانی عصاره، موش‌ها به مدت ۷۲ ساعت تحت نظر گرفته بودند و پس از

مردم استفاده می‌شود و همچنین به علت خواص بی‌شمار آن (۵۴، ۳۰-۲۸)، نیاز است که دوز سمیت این دارو مشخص گردد تا بتوان مردم را به استفاده و به کارگیری آن بدون ایجاد عوارض راهنمایی کرد و یا حتی برای بیماران توسط پزشک تجویز گردد (۵۸-۵۵). از این رو، پیشنهاد می‌شود مطالعات گسترده‌تر با دوزهای بالاتر و حتی درمان دوره‌ای و نه تک دوز در مدل‌های حیوانی انجام گیرد. به امید این که دوز سمیت این دارو مشخص گردد. همچنین، مطالعات دیگری بر روی اجزای این دارو همانند پلی‌پتید شبه انسولین آن انجام گیرد تا مشخص گردد که سمیت این دارو، ناشی از کدام جزء آن می‌باشد تا بتوان از آن به صورت علمی‌تر استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی به شماره‌ی ۱۱۸۲ است که با بودجه‌ی معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد انجام شده است. بدین وسیله، از آن معاونت محترم و سایر افرادی که در اجرای این مطالعه همکاری داشتند، قدردانی می‌شود.

مطالعات دیده شد که با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر همخوانی دارد (۹). نتایج مطالعه بر روی تأثیر هندوانه‌ی کوهی گونه‌ی هندی بر روی بافت کبد، اثرات مخربی را نشان نمی‌دهد، اما نتایج ناشی از مطالعه‌ی تأثیر هندوانه‌ی ابوجهل بر روی بافت کبد و کلیه در برخی مطالعات مطابق و در برخی دیگر مغایر با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر است (۴۸-۴۳، ۳۲).

طبق نتایج مطالعه‌ی حاضر، تا دوز ۴۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره‌ی میوه‌ی هندوانه‌ی کوهی به صورت تک دوز، اثرات جانبی بارزی بر روی کلیه و کبد نشان نمی‌دهد، اما استفاده از دوز کمتر اما به صورت طولانی مدت، می‌تواند این عوارض را تنها در بافت کلیه و فعالیت آن ایجاد کند (۵۳-۴۹).

پس می‌توان گفت شاید تجویز این دارو را به صورت کوتاه مدت با دوز محدود برای بیماران مبتلا به دیابت عارضه‌ای ایجاد نکند و در درمان طولانی مدت این دارو فعالیت کلیوی بیماران به صورت مرتب بررسی شود و در صورت ایجاد اختلال در کلیه، مصرف دارو قطع شود. از آن جایی که این دارو به طور شایع در جامعه توسط

References

1. Rafieian-Kopaei M. Medicinal plants and the human needs. *J Herbmmed Plarmacol* 2012; 1(1): 1-2.
2. Nasri H, Shirzad H. Toxicity and safety of medicinal plants. *J Herb Med Plarmacol* 2013; 2(2): 21-2.
3. Ghaderian SB, Beladi-Mousavi SS. The role of diabetes mellitus and hypertension in chronic kidney disease. *J Renal Inj Prev* 2014; 3(4): 109-10.
4. Nazar CMJ. Mechanism of hypertension in diabetic nephropathy. *J Nephropharmacol* 2014; 3(2): 49-55.
5. Tavafi M. Antioxidants against contrast media induced nephrotoxicity. *J Renal Inj Prev* 2014; 3(2): 55-6.
6. Rafieian-Kopaei M, Baradaran A, Merrikhi A, Nematbakhsh M, Madihi Y, Nasri H. Efficacy of co-administration of garlic extract and metformin for prevention of gentamicin-renal toxicity in wistar rats: A biochemical study. *Int J Prev Med* 2013; 4(3): 258-64.
7. Nasri H, Nematbakhsh M, Ghobadi S, Ansari R, Shahinfard N, Rafieian-Kopaei M. Preventive and curative effects of ginger extract against histopathologic changes of gentamicin-induced tubular toxicity in rats. *Int J Prev Med* 2013; 4(3): 316-21.
8. Shahraki MR, Miri Moghadam E, Palan MJ. The survey of Teucrium Polium toxicity effect on liver and serum lipoproteins in normoglycemic male rat. *Zahedan J Res Med Sci* 2006; 8(3): 227-32. [In Persian].
9. Mardani S, Nasri H, Hajian S, Ahmadi A, Kazemi R, Rafieian-Kopaei M. Impact of Momordica charantia extract on kidney function and structure in mice. *J Nephropathol* 2014; 3(1): 35-40.
10. Basch E, Gabardi S, Ulbricht C. Bitter melon (*Momordica charantia*): A review of efficacy and safety. *Am J Health Syst Pharm* 2003; 60(4): 356-9.
11. Grover JK, Yadav SP. Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*: A review. *J Ethnopharmacol* 2004; 93(1): 123-32.
12. Jayasooriya AP, Sakono M, Yukizaki C, Kawano M, Yamamoto K, Fukuda N. Effects of *Momordica charantia* powder on serum glucose levels and various lipid parameters in rats fed with cholesterol-free and cholesterol-enriched diets. *J Ethnopharmacol* 2000; 72(1-2): 331-6.
13. Bano F, Akthar N, Naz H. Effect of the aqueous extracts of *Momordica charantia* on body weight of rats. *J Basic Appl Sci* 2011; 7(1): 1-5.
14. Shibib BA, Khan LA, Rahman R. Hypoglycaemic activity of *Coccinia indica* and *Momordica charantia* in diabetic rats: Depression of the hepatic gluconeogenic enzymes glucose-6-phosphatase and fructose-1,6-bisphosphatase and elevation of both liver and red-cell shunt enzyme glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Biochem J* 1993; 292 (Pt 1): 267-70.
15. Platel K, Shurpalekar KS, Srinivasan K. Influence of bitter gourd (*Momordica charantia*) on growth and blood constituents in albino rats. *Nahrung* 1993; 37(2): 156-60.
16. Nazrul-Hakim M, Yaacob A, Adam Y, Zuraini A. Preliminary toxicological evaluations of polypeptide-k isolated from *Momordica charantia* in laboratory rats. *International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering* 2011; 5(3).

17. Dixit VP, Khanna P, Bhargava SK. Effects of *Momordica charantia* L. fruit extract on the testicular function of dog. *Planta Med* 1978; 34(3): 280-6.
18. Tennekoon KH, Jeevathayaparan S, Angunawala P, Karunanayake EH, Jayasinghe KS. Effect of *Momordica charantia* on key hepatic enzymes. *J Ethnopharmacol* 1994; 44(2): 93-7.
19. Paul A, Raychaudhuri SS. Medicinal uses and molecular identification of two *Momordica charantia* varieties—a review. *Electronic Journal of Biology* 2010; 6(2): 43-51.
20. Raman A, Lau C. Anti-diabetic properties and phytochemistry of *Momordica charantia* L. (*Cucurbitaceae*). *Phytomedicine* 1996; 2(4): 349-62.
21. Viridi J, Sivakami S, Shahani S, Suthar AC, Banavalikar MM, Biyani MK. Antihyperglycemic effects of three extracts from *Momordica charantia*. *J Ethnopharmacol* 2003; 88(1): 107-11.
22. Fallahzadeh MH, Fallahzadeh MA. On the occasion of world kidney disease 2016; renal disease in children. *Acta Persica Pathophysiol* 2016; 1(1): e04.
23. Pokorny J, Yanishlieva N, Gordon MH. Antioxidants in food: practical applications. Boca Raton, FL: CRC Press; 2001.p. 50-60.
24. Amiri M, Motamedi P, Vakili L, Dehghani N, Kiani F, Taheri Z, et al. Beyond the liver protective efficacy of silymarin; bright renoprotective effect on diabetic kidney disease. *J Nephropharmacol* 2014; 3(2): 25-6.
25. Pooladvand V, Taghavi MM, Mahmoodi M, Tavakolian V. Histological alterations due to the consumption of different doses of *Citrullus colocynthis* fruit in normal and diabetic male rats. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2011; 21(82): 63-72. [In Persian].
26. Bahmani M, Rafieian M, Baradaran A, Rafieian S, Rafieian-Kopaei M. Nephrotoxicity and hepatotoxicity evaluation of *Crocus sativus* stigmas in neonates of nursing mice. *J Nephropathol* 2014; 3(2): 81-5.
27. Hajibabaei K. The role of antioxidants and pro-oxidants in the prevention and treatment of cancers. *Ann Res Antioxid* 2016; 1(1): e09.
28. Dehghan Shahreza F. From oxidative stress to endothelial cell dysfunction. *J Prev Epidemiol* 2016; 1:e04.
29. Lala MA, Nazar CMJ, Lala HA, Singh JK. Interrelation between blood pressure and diabetes. *J Renal Endocrinol* 2015; 1: e05.
30. Kafeshani M. Ginger, micro-inflammation and kidney disease. *J Renal Endocrinol* 2015; 1: e04.
31. Rafieian-Kopaei M, Baradaran A, Rafieian M. Plants antioxidants: From laboratory to clinic. *J Nephropathol* 2013; 2(2): 152-3.
32. Hajivandi A, Amiri M. World Kidney Day 2014: Kidney disease and elderly. *J Parathy Dis* 2014; 2(1): 3-4.
33. Dehghan Shahreza F. Vascular protection by herbal antioxidants; recent views and new concepts. *J Prev Epidemiol* 2016; 1: e05.
34. Baradaran A, Nasri H, Nematbakhsh M, Rafieian-Kopaei M. Antioxidant activity and preventive effect of aqueous leaf extract of *Aloe Vera* on gentamicin-induced nephrotoxicity in male Wistar rats. *Clin Ter* 2014; 165(1): 7-11.
35. Nazar CMJ. Significance of diet in chronic kidney disease *J Nephropharmacol* 2013; 2(2): 37-43.
36. Nasri H, Abedi-Gheslaghi Z, Rafieian-Kopaei M. Curcumin and kidney protection; current findings and new concepts. *Acta Persica Pathophysiol* 2016; 1(1): e01.
37. Nasri H, Behradmanesh S, Ahmadi A, Rafieian-Kopaei M. Impact of oral vitamin D (cholecalciferol) replacement therapy on blood pressure in type 2 diabetes patients; a randomized, double-blind, placebo controlled clinical trial. *J Nephropathol* 2014; 3(1): 29-33.
38. Hajivandi A, Amiri M. World diabetes day: Diabetes mellitus and nephrology. *J Nephropharmacol* 2013; 2(2): 31-2.
39. Nasri H, Yazdani M. The relationship between serum LDL-cholesterol, HDL-cholesterol and systolic blood pressure in patients with type 2 diabetes. *Kardiol Pol* 2006; 64(12): 1364-8.
40. Tavafi M, Hasanvand A, Ashoory H. Proximal convoluted tubule cells in ischemia and post-injury regeneration. *Acta Persica Pathophysiol* 2016; 1(1): e05.
41. Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Anal Biochem* 1996; 239(1): 70-6.
42. Mirhosseini M, Baradaran A, Rafieian-Kopaei M. *Anethum graveolens* and hyperlipidemia: A randomized clinical trial. *J Res Med Sci* 2014; 19(8): 758-61.
43. Khodadadi S. Role of herbal medicine in boosting immune system. *Immunopathol Persa* 2015; 1(1): e01.
44. Alebrahim-Dehkordy E, Khodadadi S, Mousavipanah Z, Nasri H. Herbal antioxidants and kidney. *Ann Res Antioxid* 2016; 1(1): e10.
45. Gulleroglu K, Bayrakci U, Tulgar KS, Uslu N, Ok AA, Sarialioglu F, et al. Neuroblastoma accompanied by hyperaldosteronism. *J Renal Inj Prev* 2014; 3(3): 79-82.
46. Sabitha V, Ramachandran S, Naveen KR, Panneerselvam K. Antidiabetic and antihyperlipidemic potential of *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench. in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Pharm Bioallied Sci* 2011; 3(3): 397-402.
47. Kaushik A, Jijta Ch, Kaushik JJ, Zeray R, Ambesajir A, Beyene L. FRAP (Ferric reducing ability of plasma) assay and effect of *Diplazium esculentum* (Retz) Sw. (a green vegetable of North India) on central nervous system. *Indian J Nat Prod Resour* 2012; 3(2): 228-31.
48. Dehghan Shahreza F. Mechanistic impact of renal tubular cell protection by antioxidants. *Ann Res Antioxid* 2016; 1(1): e06.
49. Baradaran A. Lipoprotein(a), type 2 diabetes and nephropathy; the mystery continues. *J Nephropathol* 2012; 1(3): 126-9.
50. Ardalan MR. Noninvasive methods for diagnosis of chronic kidney disease related bone diseases; help or hindrance? *J Parathy Dis* 2015; 3(2): 28-9.
51. Amiri M, Hosseini SM. Diabetes mellitus type 1; is it

- a global challenge? *Acta Epidemioendocrinol* 2016; 1(1): e02.
52. Nasri H, Shirzad H, Baradaran A, Rafieian-Kopaei M. Antioxidant plants and diabetes mellitus. *J Res Med Sci* 2015; 20(5): 491-502.
53. Baradaran A, Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Oxidative stress and hypertension: Possibility of hypertension therapy with antioxidants. *J Res Med Sci* 2014; 19(4): 358-67.
54. Momeni A. Cardiovascular complications of renal failure in hemodialysis patients. *Ann Res Dial* 2016; 1(1): e05.
55. Hajian S. Positive effect of antioxidants on immune system. *Immunopathol Persa* 2015; 1(1): e02.
56. Hasanpour Z, Nasri H, Rafieian-Kopaei M, Ahmadi A, Baradaran A, Nasri P, et al. Paradoxical effects of atorvastatin on renal tubular cells: an experimental investigation. *Iran J Kidney Dis* 2015; 9(3): 215-20.
57. Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Metformin and diabetic kidney disease: a mini-review on recent findings. *Iran J Pediatr* 2014; 24(5): 565-8.
58. Baradaran A, Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Protection of renal tubular cells by antioxidants: current knowledge and new trends. *Cell J* 2015; 16(4): 568-71.

Evaluating the Liver Toxicity of Hydroalcoholic Extract of *Momordica Charantia* in Male Balb/C Mice

Hamid Nasri¹, Saeed Mardani², Mahmoud Rafieian-Kopaei³

Original Article

Abstract

Background: *Momordica charantia* (bitter melon) is known for its hypoglycemic effect and widely used for the treatment of diabetes. This study other than evaluating plant antioxidant and its effect on blood antioxidant capacity, examined the effects and safety of bitter melon fruit in laboratory mice.

Methods: 70 male mice (2-3 weeks old, body weight 25-30 g) were randomly divided into 7 groups. The mice were acclimatized to laboratory conditions for 7 days and at day 8, they were dosed intraperitoneally (single dose groups: 0, 100, 500, 1000, 2000, 4000 mg/kg and the group which was treated for 7 days: 500 mg/kg/day). Mice were then observed for 72 hours before they were scarified, immediately livers were taken for histology. Serum samples were assayed for liver functions [alkaline phosphatase (ALT), serum glutamic-pyruvic transaminase (SGPT) and serum glutamic oxaloacetic transaminase (SGOT)]. Blood and bitter melon antioxidant activity was measured.

Findings: All single dose groups showed normal behavior after the dosing and no statistical changes were observed in all liver parameters including for SGOT, SGPT or ALP ($P > 0.05$). Lab data were shown as follow: ALP = 204.7 ± 88.0 , SGOT = 180.8 ± 76.0 , SGPT = 80.6 ± 54.0 . Histological examinations revealed normal organ structures. Antioxidant activity of bitter melon was 68% and blood antioxidant activity was 564 $\mu\text{mol/ml}$.

Conclusion: Doses up to 4000 mg/kg did not have any effects on the mice liver functions nor its histology. We suggest more studies with different doses.

Keywords: *Momordica charantia*, Liver, Alkaline phosphatase (ALT), Serum glutamic-pyruvic transaminase (SGPT), Serum glutamic oxaloacetic transaminase (SGOT)

Citation: Nasri H, Mardani S, Rafieian-Kopaei M. Evaluating the Liver Toxicity of Hydroalcoholic Extract of *Momordica Charantia* in Male Balb/C Mice. J Isfahan Med Sch 2016; 34(376): 277-84

1- Professor, Department of Internal Medicine, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Assistant Professor, Department of Internal Medicine, School of Medicine, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

3- Professor, Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

Corresponding Author: Mahmoud Rafieian-Kopaei, Email: rafieian@yahoo.com